AUS DEM PHYSIOLOGISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT BASEL
(Direktor : Prof. Dr. F. Verzár)

Die Resorption von Paraffin- und Olivenöl bei normalen und adrenalektomierten Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von
Robert Christe
von Vendlincourt

(Genève, 1953)

AUS DEM PHYSIOLOGISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT BASEL
(Direktor : Prof. Dr. F. Verzár)

Die Resorption von Paraffin- und Olivenöl bei normalen und adrenalektomierten Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von
Robert Christe
von Vendlincourt

(Genève, 1953)

Von der Medizinischen Fakultät

genehmigt auf Antrag

von Professor Dr F. VERZÁR

Tag der Promotion: 20. Februar 1953



Die Resorption von Paraffin- und Olivenöl bei normalen und adrenalektomierten Ratten

Seit *Pflüger* (1) herrschte die Auffassung, dass die Fette im Darm durch Lipase zu Fettsäuren und Glycerin gespalten und in der Darmschleimhaut wieder zu Neutralfetten resynthetisiert werden. *Frazer* (2) ist dann wieder zu der älteren Auffassung zurückgekehrt, nach welcher die Fette nicht nach Spaltung zu Fettsäuren, sondern zum grössten Teil als Emulsion resorbiert werden. Als Emulgatoren wirken dabei, nach seiner Auffassung, im wesentlichen die durch eine partielle Lipolyse entstehenden Mono- und Diglyceride. Nur ein geringer Teil der Fette werde bis zu Fettsäuren gespalten und diese würden nicht über die Lymphbahn, sondern über den Blutweg resorbiert.

Diese Auffassung beruht hauptsächlich auf dem Befund, dass Paraffin ebenso fein emulgiert wie Fett, auch resorbiert wird.

Die Resorption von Paraffinoel ist aber von *Berry* und *Ivy* (1950) (3) in Lymphanalysen an Hunden, von *Lundbeak* und *Maaloe* (1947) (4) an Ratten und von *Tidwell* (1950) (5) mit dem Chylomikronentest nicht bestätigt worden.

Andererseits hat schon *Channon* (n. Verzár (1)) sowie *Stetten* (6) mit Hexadecan bei Ratten eine tägliche Resorption von 50—100 mg Paraffin gesehen. Demgegenüber kann eine Ratte täglich über 2000 mg Neutralfett resorbieren.

Frazer (2) verneinte demnach eine Resynthese von Fettsäuren und Glycerin zu Neutralfetten in der Darmschleimhaut. Irgendwelche Aktivität der Darmschleimhaut spielt, nach dieser Lehre, keine Rolle bei der Fettresorption. Die Resorption der Neutralfette in Emulsion geschehe so, dass die Tröpfchen, deren Durchmesser

geringer als 0,5 μ sei, durch Oeffnungen derselben Grössenordnung im «Stäbchensaum» der Darmepithelien durchtreten würden. Er stützt diese Anschauung damit, dass ebenso fein emulgiertes Paraffin resorbiert werde.

In einer neueren Arbeit hat *Frazer* (1951) (7) mitgeteilt, dass wenn man Ratten gleiche Mengen Paraffinoel und Olivenoel füttert, die bei der lipolytischen Spaltung des Olivenoels entstehenden Mono- und Diglyceride genügen, um ausser dem Neutralfett Triolein auch das Paraffin in eine entsprechend feine Emulsion zu bringen. Folglich würden beide resorbiert.

In früheren Versuchen von *Verzâr und Laszt* (8) und *Jeker* (9) wurde gezeigt, dass nach Adrenalektomie eine Verminderung der Fettresorption stattfinde. Dies wurde so erklärt, dass die Aktivität der Epithelien der Dünndarmschleimhaut, welche in einer Synthese von Fettsäuren und Glycerin zu Neutralfett bestehen würde, gestört sei.

Als Zwischenprodukt dieser Synthese wurden von verschiedenen Autoren *(Sinclair* etc.) (1) Phosphatide diskutiert. Dass diese während der Fettresorption im Darmepithel zunehmen, wird auch von *Frazer* (2) neuerdings bestätigt, obwohl er ihre Rolle anders deutet.

Allerdings sagt *Frazer* (2) «Die Hydrolyse der Triglyceride mit langen Fettsäuren ist partiell. Diese Fette werden in Form einer feinen Emulsion resorbiert. Die Nebennierenrinde übt auf deren Resorption eine sehr starke Wirkung aus».

Es wäre aber schwer zu verstehen, warum die Fettresorption nach Adrenalektomie abnimmt, wenn das Darmschleimhautepithel in diesem Vorgang keine aktive Rolle spielt, was eigentlich der Fall wäre, wenn das Fett als feine Tröpfchen durch Löcher in den Darmschleimhautepithelien aufgenommen würde.

Quantitative Angaben über die Grösse der Resorption von Paraffin im Verhältnis zu Fett beim normalen Tier fehlen bis jetzt, und es sollte deshalb im Resorptionsversuch quantitativ verglichen werden, wieviel von den beiden Substanzen aus einem gleichzeitig eingegebenen Gemisch resorbiert werden.

Es wurde ferner bei normalen und adrenalektomierten Tieren untersucht, wie viel Neutralfett und wie viel Paraffin in derselben Zeit resorbiert wird.

Methodik:

Für diese Untersuchung haben wir ♂ Ratten unserer Zucht von 100—130 g Körpergewicht gebraucht, die alle unter denselben Bedingungen lebten und die gleiche Nahrung erhielten. Die Adrenalektomie wurde doppelseitig, durch Lumbalschnitt, gemacht.

Nach der Nebennierenexstirpation wurde das Körpergewicht täglich bestimmt. Wenn das Gewicht der Tiere abzunehmen anfing, was gewöhnlich 5—10 Tage nach der Nebennierenexstirpation der Fall war, wurde das Tier für den Versuch genommen.

In einer Serie wurden immer gleich viele normale und nebennierenlose Tiere für einen Resorptionsversuch gebraucht. Alle Tiere wurden gleich und wie folgt behandelt:

18 Stunden vor dem Versuch erhielten sie keine Nahrung mehr.

Es wurde Olivenoel (Oleum olivae neutralisatum, P.H.V. Spez. Gew. = 0,915) und Paraffinoel (Paraffinum subliquidum, P.H.V. mit Spez. Gew. 0,885, Visc. 1,0 P) verwendet.

2 cc eines 1 : 1 Gemisches von Olivenoel und Paraffinoel = 1,902 g (0,921 g Paraffin und 0,981 g Olivenoel) wurden jedem Tier per Magensonde eingegeben. Es wurde dieselbe Mischung für alle Resorptionsversuche gebraucht.

Die im Versuch stehenden Tiere wurden gesondert, jedes in einem Glaskäfig, auf dessen Boden man eine Schicht Zellstoff gelegt hatte, bei einer Zimmertemperatur von 28° C gehalten.

Die Tiere hatten während des Versuches immer Wasser zur Verfügung.

Nach 6-stündiger Resorption wurden die Tiere mit Leuchtgas getötet. Eine Ligatur wurde sofort an der Cardia, am Pylorus und am unteren Ende des Rectums angelegt.

Der ganze Magen-Darmkanal, vom Oesophagus bis zum Rectum, wurde herausgenommen und vom Mesenterium befreit. Der Magen wurde besonders behandelt und das in diesem nicht resorbierte Gemisch bestimmt. Er wurde mit 6 × 10 ccm einer Lösung von Aceton-Petrolaether im Verhältnis 1 : 1 mit Hilfe einer Spritze ausgespült. Der Extrakt wurde in einem Luftstrom am Wasserbad bei 50° C. verdampft und der Rückstand eine halbe Stunde bei

95° C. getrocknet. Das im Rückstand enthaltene Oelgemisch wurde dreimal mit 50 ccm kaltem Petrolaether, ein viertes Mal mit warmem Petrolaether extrahiert und die sukzessiven Portionen Petrolaether in ein tariertes Erlenmeyerkölbchen filtriert, in einem Luftstrom am Wasserbad bei 50° C verdampft, bei 95° C ½ Stunde getrocknet, im Exsikkator bis Gewichtskonstanz aufbewahrt, dann gewogen.

Zur Resorption gelang von den eingegebenen 2 ccm Gemisch nur das, was nicht im Magen zurückgefunden wird.

Der Darm zwischen Pylorus- und rektaler Ligatur wurde in 2 Teilen sechsmal mit 10 ccm der Aceton-Petrolaether 1 : 1 Mischung mit Hilfe einer Spritze gespült. Die zwei Teile wurden vereinigt und die gleiche Prozedur, wie bei der Extraktion des Mageninhaltes, angewendet. Das ergibt das im Darm nach der Resorption noch gebliebene Fett und Paraffin.

Die Differenzierung zwischen Olivenoel und Paraffinoel aus dem Gemisch, das aus dem Gesamtdarm gewonnen wurde (Magen, Dünndarm, Dickdarm und Rectum), erfolgte folgenderweise:

Das totale Gemisch wurde in einem Erlenmeyerschliffkolben mit Na-Propylat (Chargaff (10)) während einer Stunde, auf der elektrischen Kochplatte, am Rückflusskühler verseift. Wir haben für 1—1,5 g Oelgemisch 20 ccm einer 0,45 n Na-Propylatlösung gebraucht. Die nach der Verseifung noch heisse Lösung wurde in einen Scheidetrichter abgegossen. Nach dem Erkalten wurde 50 ccm Petrolaether zugegeben und kräftig geschüttelt. Ein Teil der Seifen fällt in der Kälte aus. Dann wurde Wasser zugesetzt (ca. 20 ccm), bis die Seifen sich lösen. Die Lösung trennt sich in zwei Schichten: die obere enthält das Paraffin in Petrolaether, die untere die Seifen in wässeriger Lösung. Die untere Schicht wird dekantiert und die Petrolaetherschicht noch zweimal mit 20 ccm Wasser gewaschen. Die wässerige Lösung wird zu 1/5 konzentriert, mit 2 × 50 ccm Petrolaether extrahiert und dann verworfen. Die Petrolaetherlösung wird in einem tarierten Gefäss am Wasserbad bei 50° C im Luftstrom verdampft, der Rückstand bei 95° C getrocknet, im Exsikkator bis Gewichtskonstanz aufbewahrt und abgewogen. Die zurückerhaltene Substanz entspricht dem nicht resorbierten Paraffin.

Kontrollversuche mit dieser Methode ergaben das folgende :

a) Mit der Magensonde eingegebenes Gemisch von Paraffin mit Olivenöl 1:1 beträgt 2 ccm = 1902 ± 2 mg (± 0,1 %).

b) 1902 mg Oelgemisch wurde Ratten mit der Magensonde eingegeben, die Tiere sofort getötet, der Magen und Darm extrahiert. In 10 Versuchen wurde im Mittel 1880 mg ± 11 mg wiedergefunden, entsprechend 22 mg ± 11 mg (= 1,1 %) Verlust.

c) Differenzierung des Gemisches (1 Teil Olivenoel: 1 Teil Paraffinoel) ergab im Mittel von 10 Analysen :

921 mg ± 7 mg (= ± 0,8 %) unverseifbarer Anteil, Paraffin und 981 mg ± 8 mg (= ± 0,8 %) verseifbarer Anteil, Olivenoel.

Versuchsresultate:

Es sind 25 Versuche an normalen und 19 Versuche an adrenalektomierten Ratten gemacht worden. Alle Tiere wurden 6 Stunden nach Eingabe des Paraffin-Olivenoel-Gemisches getötet und der Magen-Darmkanal aufgearbeitet. Die Resultate sind in Tabelle I und II zusammengestellt und die Mittelwerte in Tabelle III verglichen. In der letzteren sind auch die berechneten P-Werte zu finden.

Tabelle I.

Resorption von Paraffin- und Olivenoelgemisch in 6 Stunden bei normalen Ratten. Eingegeben wurde 1.902 mg Oelgemisch = 921 mg Paraffin und 981 mg Olivenoel.

Gewicht d. Tiere	Im Magen zurückgeblieben	Total resorbiert	Paraffin resorbiert	Olivenoel resorbiert	Verhältnis Olivenoel Paraffinoel resorbiert
gr.	*mg.*	*mg.*	*mg.*	*mg.*	
106	536	762	214	548	2,6
118	533	690	162	528	3,3
120	630	576	121	455	3,8
118	568	763	202	561	2,8
96	229	311	146	165	1,1
108	706	821	301	520	1,7
164	288	1064	139	925	6,6
156	672	554	41	513	12,5
182	368	703	337	366	1,1
182	418	670	56	614	11,0
140	547	438	87	351	4,3
80	252	634	158	476	3,3
80	214	554	134	420	3,1
114	420	458	101	357	3,5
108	334	187	68	119	1,7
112	543	451	73	378	5,1
128	509	380	71	309	4,3
110	229	374	99	275	2,8
120	619	371	62	309	5,0
110	611	567	104	463	4,4
158	843	265	27	238	8,8
140	668	373	27	346	12,8
135	562	551	128	423	3,3
118	603	526	116	410	3,5
127	721	528	122	406	3,3
Mittel :	505	543	124	409	4,6
ε :	± 37mg.	± 37mg.	± 12mg.	± 32mg.	± 0,6

Tabelle II.

Resorption von Paraffin- und Olivenoelgemisch in 6 Stunden bei nebennierrenlosen Ratten. Eingegeben wurde 1902 mg Oelgemisch = 921 mg Paraffin und 981 mg Olivenoel.

Gewicht der Tiere		Tag nach der Adrenalektomie	Im Magen zurückgeblieben	Total resorbiert	Paraffin resorbiert	Olivenoel resorbiert	Verhältnis Olivenoel Paraffinoel resorbiert
am Tag des Versuchs	am Tag der Adrenalektomie						
gr.	gr.		mg.	mg.	mg.	mg.	
86	104	6	365	727	345	382	1,1
96	113	6	614	614	282	332	1,2
82	94	5	23	733	288	445	1,6
81	94	5	847	424	185	239	1,3
83	96	5	351	984	329	655	2,0
88	104	8	696	346	142	204	1,4
126	132	8	375	521	305	216	0,7
112	116	8	570	447	289	158	0,5
131	134	8	412	242	107	135	1,3
131	138	8	6	786	370	416	1,1
124	128	8	43	486	178	308	1,7
131	140	7	181	275	70	199	2,8
132	138	7	831	100	100	0	0
128	130	9	1271	72	52	20	0,4
130	145	8	0	265	139	126	0,9
145	152	10	657	459	210	249	1,2
130	138	5	432	599	265	304	1,1
126	140	10	291	396	175	221	1,3
128	142	9	520	415	190	225	1,2
Mittel :			447	466	212	254	1,2
ε :			± 76mg.	± 54mg.	± 25mg.	± 34mg.	± 0,15

Tabelle III.

Vergleich der Resorption von Paraffin- und Olivenoel bei normalen und nebennierenlosen Ratten.

	Im Magen zurückgeblieben	Total resorbiert	Paraffinöl resorbiert	Olivenöl resorbiert	Verhält. Oliven.-Paraffinoel resorbiert	Zahl Versu
Normale Ratten	505 ± 37mg.	543 ± 37mg.	124 ± 12mg.	419 ± 32mg.	4,6 ± 0,6	25
Nebennierenlose Ratten	447 ± 76mg.	466 ± 54mg.	212 ± 25mg.	254 ± 34mg.	1,2 ± 0,15	19
P Werte der zwei Serien	0,4	0,3	0,01	0,01	0,01	

Der mittlere Fehler wurde nach der Formel $\varepsilon = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$ berechnet. Die t-Werte der zwei zu vergleichenden Serien wurden nach $t = \pm \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 - \varepsilon_2^2}}$ berechnet. Die P-Werte der zwei zu vergleichenden Serien wurden in (11) abgelesen.

Diese Resultate zeigen folgendes:

Nach 6 Stunden ist ca. $^1/_4$ des Oelgemisches noch im Magen zu finden. (Eine Analyse dieser Portion zeigte, dass die Zusammensetzung des Oelgemisches sich nicht verändert hatte.)

Vom Gesamtgemisch wird bei normalen und nebennierenlosen Tieren ungefähr dieselbe Menge resorbiert. P-wert der beiden Serien = 0,3, d. h. es ist kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Serien.

Bei der Bewertung der gefundenen «Resorptions-Werte» ist zu bedenken, dass von dem «Eingegebenen» das «Wiedergefundene» abgezogen wurde. Die Differenz wurde als «resorbiert» betrachtet. Falls also aus irgendwelchen analytischen Gründen zu wenig aus dem Darm extrahiert wurde, dann wird das die Menge des als «resorbiert» bezeichneten vergrössern.

Die Resorption des Olivenoels schwankt bei den normalen Tieren zwischen 119 und 614 mg, und bei den adrenalektomierten zwischen 0 und 655 mg. Aus den Mittelwerten berechnet sich eine Abnahme der Resorption von 419 ± 32 mg bei den normalen Tieren, auf 254 ± 34 mg bei den adrenalektomierten Tieren.

Die Resorption von Paraffinoel bei normalen Tieren schwankt zwischen 27 mg und 337 mg, im Mittel 124 ± 12 mg. Frazer (9) findet eine Resorption von 120—150 mg Paraffinoel. In wieviel Stunden und wieviel Paraffinoel er seinen Ratten gegeben hat und wie er die Analysen durchgefürt hat, ist in dieser Arbeit nicht angegeben. In 16 Tagen, berichtet er weiter, haben 10 Ratten 170 g Paraffinoel eingenommen und davon 108 g resorbiert. Im Mittel hätte also eine Ratte 168 mg Paraffinoel in 6 Stunden resorbiert. Diese Angaben stimmen mit den von uns erhaltenen Resultaten überein.

Nach der Adrenalektomie ist demnach eine Abnahme der Resorption von Neutralfett eingetreten, in der Grössenordnung wie es auch in früheren Versuchen gesehen wurde. Eine Abnahme der Resorption von Paraffinoel trat nicht ein. Nach den Mittelwerten fehlt sogar mehr bei den adrenalektomierten Tieren. In Anbetracht der analytischen Fehlerbreite kann aber aus letzterem schwerlich eine weitere Folgerung gezogen werden. Das Verhältnis von nicht zurückgewonnenem Olivenoel und Paraffinoel, also den als «resorbiert» bezeichneten Mengen, ist bei den normalen Tieren 4,6 und bei den adrenalektomierten Tieren 1,2. Bei normalen wurde also viermal so viel Olivenoel als Paraffinoel in etwa 6 Stunden resorbiert, bei adrenalektomierten dagegen etwa gleich viel. Das beweist, dass bei den adrenalektomierten die Resorption des Olivenoels vermindert war.

Zusammenfassung:

1. Normalen sowie adrenalektomierten Ratten wird ein Gemisch von Paraffinoel und Olivenoel aa mit Magensonde eingegeben und die im Magendarmkanal zurückgebliebene Menge extrahiert. Die Differenz wird als «resorbiert» betrachtet.

2. In 6 Stunden wird bei normalen Ratten im Mittel 124 mg Paraffinoel und 419 mg Olivenoel resorbiert. Das Verhältnis «resorbiertes Olivenoel zu resorbiertem Paraffinoel» ist 4,6.

3. 5—10 Tage nach der Adrenalektomie wurden in ebensolchen Versuchen im Mittel 212 mg Paraffinoel und 254 mg Olivenoel resorbiert. Das Verhältnis «resorbiertes Olivenoel zu resorbiertem Paraffinoel» sinkt auf 1,2.

4. Nach der Adrenalektomie ist in Bestätigung früherer Befunde die Resorption von Olivenoel (Fett) vermindert.

Diese Arbeit wurde mit der Unterstützung des eidgenössischen Fond für wissenschaftliche Forschung durchgeführt, wofür wir an dieser Stelle unseren besonderen Dank aussprechen möchten.

Literatur

(1) *Verzár, F.* and *McDougall, E. J.*: Absorption from the intestine, Longmanns & Green London (1936).

(2) *Frazer, A. C.*: The digestion and absorption of fat, Colloques intern. du CNRS. Série XI : Les lipides, Paris (1949).

(3) *Berry, J. M.* and *Ivy, A.C.*: Partitionhypothesis for intestinal absorption of fat, Am. J. physiol. *162*, 80 (1950).

(4) *Lundbeak, K.* and *Maaloe, O.*: Non absorption of a finely emulsified paraffinum liquidum in the intestine of the rat, Acta physiol. scand. *13*, 247 (1947).

(5) *Tidwell, H.*: Mechanism of fat absorption as évidenced by chilomicrographic studies, J. biol. chem. *182*, 405 (1950).

(6) *Stetten, De Witt, Jr.*: Metabolism of paraffin, J. biol. chem. *147*, 327 (1943).

(7) *Frazer, A. C., Daniel, J. W., French, J. M., Sammons, H. G.*: The absorption of the paraffin, J. Physiol., *114*, 26 P (1951).

(8) *Verzár, F.* und *Laszt, L.*: Die Hemmung der Fettresorption nach Exstirpation der Nebennieren. Biochem. Z., *276*, 11 (1935) und *278*, 396 (1935).

(9) *Jeker, L.*: Histologische Bilder der Fettresorption bei Monoiodessigsäurevergiftung und nach der Nebennierenexstirpation verglichen mit normaler Fettresorption, Mit. a.d. VII. Tag. der fr. Verh. Schweiz. Physiol., 26. I. 1935 (siehe Verzár (1)).

(10) *Chargaff, E.*: Ueber die Charakterisierung von Fetten in geringen Substanzenmengen, Z. physiol. chem. *199*, 221 (1931).

(11) *Burn, J. H.*: Biologische Auswertungsmethoden, Springer 1937, S. 215.